·论著·

基于 NOD 样受体 3 炎性小体通路对利拉鲁肽在氧化低密度脂蛋白诱导内皮细胞损伤的作用机制研究

陈玲，徐锐，程新春，张占英，徐红*

830001 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐，新疆维吾尔自治区人民医院老年医学中心
*通信作者：徐红，主任医师 / 副教授；E-mail：1766332511@qq.com

【摘要】 **背景** 动脉粥样硬化是世界范围内引起心脑血管疾病最主要的原因，炎症是目前研究热点，其中 NOD 样受体 3（NLRP3）是研究最为深入的炎症小体。GLP-1 受体激动剂有抗动脉硬化作用，具体机制尚不明确。**目的** 研究利拉鲁肽通过拮抗氧化低密度脂蛋白（oox-LDL）诱导的内皮细胞损伤的作用机制。**方法** 培养人脐静脉内皮细胞（HUVEC），取 HUVEC 加空白血清作为对照组，100 μg/mL 的 ox-LDL 干预 HUVEC 48 h 作为模型组，100 μg/mL 的 ox-LDL 干预 HUVEC 24 h 后分别加入 100 nmol/L、200 nmol/L、400 nmol/L 利拉鲁肽处理 24 h 作为利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组。CCK-8 法计算细胞增殖率。通过扫描电镜观察焦亡细胞形态。检测乳酸脱氢酶（LDH）活力。酶联免疫吸附试验（ELISA）检测白介素（IL）1β、IL-18 表达水平。蛋白质免疫印迹试验（Western blot）检测 NOD 样受体 3（NLRP3）、接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白（ASC）、天冬氨酸蛋白水解酶 1（Caspase-1）、焦亡执行蛋白（GSDMD）、N 端结构域的焦亡执行蛋白（N-GSDMD）表达水平。**结果** 模型组、利拉鲁肽低浓度组和利拉鲁肽中浓度组细胞增殖率低于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组细胞增殖率高于模型组（$P<0.05$）。细胞扫描电镜结果示模型组细胞焦亡明显，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组细胞焦亡情况明显改善。模型组、利拉鲁肽低浓度组 LDH 活力高于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组低于模型组（$P<0.05$）。模型组、利拉鲁肽低浓度组 IL-1β 表达水平高于对照组，利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组 IL-1β 表达水平低于模型组（$P<0.05$）；模型组 IL-18 表达水平高于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组 IL-18 表达水平低于模型组（$P<0.05$）。模型组 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、N-GSDMD 表达水平高于正常组，利拉鲁肽低浓度组 ASC、Caspase-1 表达水平高于正常组，利拉鲁肽中浓度组 NLRP3、ASC 表达水平低于模型组，利拉鲁肽高浓度组 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平低于模型组（$P<0.05$）。**结论** 利拉鲁肽显著抑制 ox-LDL 诱导的内皮细胞 NLRP3 炎性小体活化，并且能够抑制内皮细胞的焦亡，具有抗动脉粥样硬化作用。

【关键词】 动脉粥样硬化；利拉鲁肽；内皮细胞；氧化低密度脂蛋白；NOD 样受体 3
【中图分类号】 R 543.5 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0531

Mechanism of Liraglutide in Oxidized Low-density Lipoprotein Induced Endothelial Cell Injury Based on NOD-like Receptor 3 Inflammasome Pathway

*CHEN Ling，XU Rui，CHEN Xinchun，ZHANG Zhanying，XU Hong**
Geriatric Medical Center，People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region，Urumqi 830001，China
**Corresponding author：XU Hong，Chief physician/Professor；E-mail：1766332511@qq.com*

【Abstract】 **Background** Atherosclerosis is the primary cause of cardiovascular and cerebrovascular diseases worldwide，and inflammation is a current research focus，with NOD-like receptor 3（NLRP3）being the most intensively studied inflammasome. GLP-1 receptor agonists have shown anti-atherosclerotic effects，but the underlying mechanisms remain unclear. **Objective** To investigates the mechanism of liraglutide in antagonizing oxidized low-density lipoprotein（ox-LDL）

基金项目：新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目（2022D01C635）；新疆维吾尔自治区人民医院院内基金项目（20200202）
引用本文：陈玲，徐锐，程新春，等. 基于 NOD 样受体 3 炎性小体通路对利拉鲁肽在氧化低密度脂蛋白诱导内皮细胞损伤的作用机制研究［J］. 中国全科医学，2023. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0531.［Epub ahead of print］.［www.chinagp.net］
CHEN L，XU R，CHENG X C，et al. Mechanism of liraglutide in oxidized low-density lipoprotein induced endothelial cell injury based on NOD-like receptor 3 inflammasome pathway［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.



induced endothelial cell injury. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells（HUVECs）were cultured，and HUVEC with blank serum was served as the control group，100 μg/mL ox-LDL treated HUVECs for 48 hours was served as the model group. Liraglutide was added in concentrations of 100 nmol/L，200 nmol/L，and 400 nmol/L to the HUVECs treated with ox-LDL for 24 hours，forming low，medium，and high concentration liraglutide groups，respectively. Cell proliferation rates were calculated using the CCK-8 method. Pyroptotic cell morphology was observed by using scanning electron microscopy. Lactate dehydrogenase（LDH）activity was measured. The expression levels of interleukin （IL） 1β and IL-18 were detected using enzyme-linked immunosorbent assay（ELISA）. Western blotting was used to assess the expression levels of NLRP3，apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD（ASC），caspase-1，gasdermin D（GSDMD），and N-terminal GSDMD（N-GSDMD）. **Results** Cell proliferation rate in the model group and both low and medium concentration liraglutide groups were lower than the control group，while the rate in all liraglutide-treated groups were higher than the model group（$P<0.05$）. Scanning electron microscopy showed obvious pyroptosis in the model group cells，which was significantly reduced in all liraglutide-treated groups. LDH activity in the model group and the low concentration liraglutide group was higher than the control group，while it was lower in all liraglutide-treated groups compared to the model group（$P<0.05$）. IL-1β level in the model group and the low concentration liraglutide group was higher than the control group，whereas IL-1β levels in the medium and high concentration liraglutide groups was lower than the model group（$P<0.05$）. IL-18 level in the model group was higher than the model group，while level in all liraglutide-treated groups was lower than the model group（$P<0.05$）. The expression levels of NLRP3，ASC，caspase-1，GSDMD，and N-GSDMD in the model group were higher than the control group. In the low concentration liraglutide group，ASC and caspase-1 levels were higher than the control group，whereas in the medium concentration group，NLRP3 and ASC levels were lower than the model group. In the high concentration group，NLRP3，ASC，and caspase-1 levels were lower than the model group（$P<0.05$）. **Conclusion** Liraglutide significantly inhibits NLRP3 inflammasome activation in endothelial cells induced by ox-LDL，and can inhibit endothelial cell pyroptosis，with anti-atherosclerotic effects.

【Key words】 Atherosclerosis；Liraglutide；Endothelial cells；Oxidized low-density lipoprotein；NOD-like receptor 3

动脉粥样硬化（AS）的发病率逐年上升，是世界范围内引起心脑血管疾病的最主要原因，给患者、社会带来了沉重的负担。故寻找新的预防和治疗方法，是当今医学界亟待解决的问题。AS 的发病机制涉及到免疫炎症反应、脂代谢紊乱、氧化应激、血管内皮损伤及血流动力学的改变等，是一个极其复杂的病理过程。脂代谢紊乱和炎症是目前研究的热点内容，具体机制尚不明确，目前针对 NOD 样受体 3（NLRP3）的研究主要集中在单核巨噬细胞内，对其他细胞内有关 NLRP3 炎症小体的研究较少。最近的研究发现 NLRP3 炎性小体促使炎症反应的发生，介导了内皮细胞的焦亡，参与了 AS 的进程[1]。近年来有研究发现，利拉鲁肽可以通过抑制血管内皮损伤，预防 AS，降低体质量，减轻机体慢性炎症等方式来减少心血管疾病的发病风险[2]。近期有研究报道利拉鲁肽抑制了游离脂肪酸诱导的 NLRP3 炎症小体的活化，减少了白介素（IL）1β 和天冬氨酸蛋白水解酶 1（Caspase-1）的分泌，降低了肝脏中接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白（ASC）的产生[3]。也有研究表明，利拉鲁肽通过激活磷酸腺苷来减弱氧化低密度脂蛋白（ox-LDL）诱导的小鼠巨噬细胞脂质积聚，从而抑制 AS[4]。基于此本研究团队提出如下假说：利拉鲁肽可能通过抑制内皮细胞的 NLRP3 炎症小体活化和细胞焦亡，发挥对 AS 的抑制作用。本研究基于 NLRP3 炎性小体通路，进一步探讨利拉鲁肽通过拮抗氧化 ox-LDL 诱导的内皮细胞损伤的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验时间

2022-03-25—2022-05-19。

1.2 细胞与主要试剂

利拉鲁肽注射液购自诺和诺德，货号：8074252；人脐静脉内皮细胞（HUVEC）购自普诺赛，货号：CL-0122；HUVEC 细胞专用培养基；乳酸脱氢酶（LDH）活性检测试剂盒（Solarbio，货号：BC0685）；肌动蛋白（β-Actin）抗体（内参抗体，兔抗）（Bioss，货号：bs-0061R）、抗 NLRP3 抗体（Bioss，货号：bs-10021R）、抗 ASC 抗体（Bioss，货号：bs-34024R）、抗 Caspase-1 抗体（Bioss，货号：bs-10743R）；抗焦亡执行蛋白（GSDMD）抗体（Abcam，货号：ab209845）、抗 N 端结构域的焦亡执行蛋白（N-GSDMD）抗体（Abcam，货号：ab215203）；BCA 蛋白浓度测定试剂盒（solarbio PC0020）、高效 RIPA 组织 / 细胞快速裂解液（solarbio R0010）。

1.3 主要仪器设备

气套式触屏 CO_2 恒温培养箱（CI-191X）；低速台式离心机（L600-A）；涡旋仪（GL-88D）；生物安全柜（BSC-1304 Ⅱ A2）；倒置生物显微镜系统（ICX41）；数显恒温水浴锅（HH-1）；酶标仪（K6600-B）；

LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌器；细胞流式仪（LSRII）；电子显微镜（Hitachi Regulus 8100）；Bio 小型垂直电泳及转印（1645050）；低温冷冻离心机（H2050R）。

1.4 细胞处理与分组

1.4.1 细胞处理方法：HUVEC 接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中，放置在 5%CO_2、37℃恒温二氧化碳培养箱中进行培养。显微镜下观察贴壁细胞 HUVEC 密度，当生长至细胞培养皿面积的 90% 左右即可传代。弃去培养基，用 PBS 洗涤 2 次，加入 EDTA- 胰蛋白酶分离细胞。将分离后的细胞置入 15 mL 的离心管中，室温 1000 r/min 离心 5 min，弃去上清，加入新鲜完全培养基重悬细胞，置于细胞培养箱中继续培养，第 3~7 代传代细胞用于下一步实验。

1.4.2 实验分组及给药：培养 HUVEC，分为对照组、模型组、利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组。取 HUVEC 加空白血清作为对照组，100 μg/mL 的 ox-LDL 干预 HUVEC 48 h 作为模型组，100 μg/mL 的 ox-LDL 干预 HUVEC 24 h 后分别加入 100 nmol/L、200 nmol/L、400 nmol/L 利拉鲁肽处理 24 h 作为利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组。参考郑昊龙等[5]的研究选择 ox-LDL 的浓度；参考高海娜[6]描述的方法选择的利拉鲁肽干预 HUVEC 浓度。

1.5 实验方法

1.5.1 CCK-8 法计算细胞增殖率：将各组细胞接种于 96 孔板中培养 24 h，向每孔加入 10 μL CCK-8 溶液，将培养板在培养箱内孵育 4 h，用酶标仪测定在 450 nm 处各组样本的 OD。细胞增殖率（%）=［（实验组 OD- 空白组 OD）/（对照组 OD- 空白组 OD）］×10^0%。

1.5.2 通过扫描电镜观察焦亡细胞形态。

1.5.3 乳酸脱氢酶（LDH）活力：用移液枪吸取各组细胞培养液，12 000 g，4 ℃离心 20 min，取上清液。按照检测试剂盒说明书操作步骤，用酶标仪测定在 450 nm 处各组样本的吸光度（OD），计算各组 LDH 的活力。

1.5.4 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测炎症因子 IL-1β、IL-18 表达水平：用移液枪吸取各组细胞培养液，1 000 g 离心 20 min，取上清液。参照试剂盒说明书操作，检测细胞外液 IL-1β、IL-18 表达水平。

1.5.5 蛋白质免疫印迹试验（Western blot）检测 NLRP3 炎性小体活化相关蛋白（NLRP3、ASC、Caspase-1）与焦亡相关蛋白（GSDMD、N-GSDMD）蛋白表达水平：提取细胞总蛋白，严格按 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明书进行蛋白定量后，进行十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳，转膜后室温下封闭，用特异性抗体进行免疫杂交检测，肌动蛋白（β-actin）作为内参，化学发光剂显色，最后对目的条带进行扫描密度分析，通过 ImageJ 1.0 处理分析得出各条带灰度值，得到目的条带与内参蛋白灰度值得比值。每组重复 3 次。

1.6 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行数据分析，符合正态分布的计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 检验。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5 组 HUVEC 细胞增殖率比较

5 组 HUVEC 细胞增殖率比较，差异有统计学意义（P<0.05），其中模型组、利拉鲁肽低浓度组和利拉鲁肽中浓度组细胞增殖率低于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组细胞增殖率高于模型组（P<0.05），见表 1。

表 1 各组细胞 CCK-8 结果（$\bar{x} \pm s$，n=5）
Table 1 Results of CCK-8 in each group

分组	细胞增殖率（%）
对照组	100
模型组	40.75 ± 4.11^a
利拉鲁肽低浓度组	53.16 ± 4.78^{ab}
利拉鲁肽中浓度组	60.41 ± 4.97^{ab}
利拉鲁肽高浓度组	90.20 ± 9.77^b
F 值	99.02
P 值	<0.001

注：^{a} 表示与对照组比较 P<0.05，^{b} 表示与模型组比较 P<0.05。

2.2 细胞扫描电镜结果

电镜观察各组细胞形态学变化各组细胞存在明显差异，对照组细胞形态较好，未见明显损伤，整体结构尚可，与对照组比较，模型组细胞焦亡特征较明显，细胞膜鼓包、隆起、破损，出现窗孔，部分细胞内容物释放至胞外；与模型组比较，利拉鲁肽干预后细胞焦亡有不同程度的减轻，其中高剂量组细胞焦亡程度相对最轻，细胞膜局部隆起、伪足可见；中剂量组细胞焦亡程度相对较轻，膜破损或隆起、窗孔略少、偏小；低剂量组细胞焦亡程度较重，细胞膜大面积隆起、破损。各组细胞电镜扫描结果见图 1。

2.3 5 组 HUVEC 细胞 LDH 活力比较

5 组 HUVEC 细胞 LDH 活力比较，差异有统计学意义（P<0.05），其中模型组、利拉鲁肽低浓度组高于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组低于模型组（P<0.05），见表 2。

2.4 5 组 HUVEC 细胞 IL-1β、IL-18 表达水平比较

5 组 HUVEC 细胞 IL-1β、IL-18 表达水平比较，

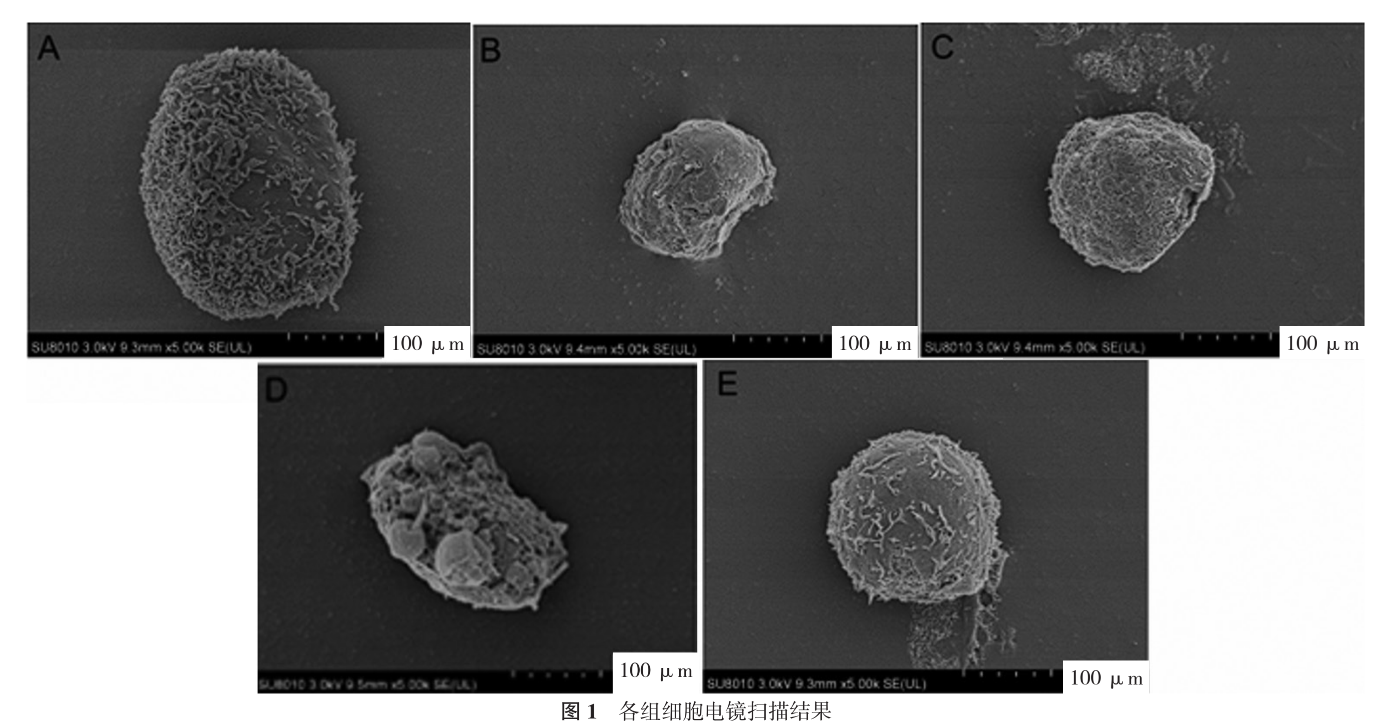


图 1 各组细胞电镜扫描结果

Figure 1 Electron microscope scanning results of each cell group

差异有统计学意义（$P<0.05$），其中模型组、利拉鲁肽低浓度组 IL-1β 表达水平高于对照组，利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组 IL-1β 表达水平低于模型组（$P<0.05$）；模型组 IL-18 表达水平高于对照组，利拉鲁肽低浓度组、利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组 IL-18 表达水平低于模型组（$P<0.05$），见表 3。

表 2 各组细胞 LDH 活力（$\bar{x}\pm s$，$n=3$）

Table 2 LDH activity of cells in each group

分组	LDH 活力（U/mL）
对照组	60.67 ± 1.94
模型组	81.04 ± 6.71[a]
利拉鲁肽低浓度组	71.21 ± 2.31[ab]
利拉鲁肽中浓度组	68.79 ± 2.51[b]
利拉鲁肽高浓度组	65.39 ± 1.82[b]
F 值	13.63
P 值	<0.001

注：LDH= 乳酸脱氢酶；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型组比较 $P<0.05$。

2.5 5 组 HUVEC 细胞 NLRP3 炎性小体活化相关蛋白与焦亡相关蛋白表达水平比较

5 组 HUVEC 细胞 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、N-GSDMD 表达水平比较，差异均有统计学意义（$P<0.05$）。组间比较结果显示，模型组 NLRP3、ASC、Caspase-1、GSDMD、N-GSDMD 表达水平高于正常组，利拉鲁肽低浓度组 ASC、Caspase-1 表达水平高于正常组，利拉鲁肽中浓度组 NLRP3、ASC 表达水平低于模型组，利拉鲁肽高浓度组 NLRP3、ASC、Caspase-1 表达水平低于模型组，差异有统计学意义（$P<0.05$），见表 4。

表 3 各组细胞 IL-1β、IL-18 表达水平（$\bar{x}\pm s$，pg/mL，$n=3$）

Table 3 The expression levels of IL-1β and IL-18 in each group

分组	IL-1β	IL-18
对照组	56.57 ± 2.87	170.05 ± 9.60
模型组	71.34 ± 3.09[a]	225.64 ± 14.22[a]
利拉鲁肽低浓度组	64.38 ± 2.84[a]	195.94 ± 13.45[b]
利拉鲁肽中浓度组	58.91 ± 2.62[b]	184.19 ± 18.45[b]
利拉鲁肽高浓度组	56.24 ± 2.86[b]	163.14 ± 10.17[b]
F 值	15.02	9.93
P 值	<0.001	0.002

注：IL-1β = 白介素 1β，IL-18= 白介素 18；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型组比较 $P<0.05$。

3 讨论

研究表明，先天免疫模式识别受体的作用不仅仅局限于 AS 的形成，而且还可以作为一种连接机制，将其与其他免疫反应相联系，从而影响到整个动脉硬化的进程[7-8]。先天免疫模式识别受体主要包含两类：一类是胞浆内的 NOD 样受体（NLRs），另一类则是细胞膜上的 Toll 样受体（TLRs）。NLRP3 炎症小体为细胞内模式识别受体，也是目前研究最为深入、最为广泛的炎性小体。

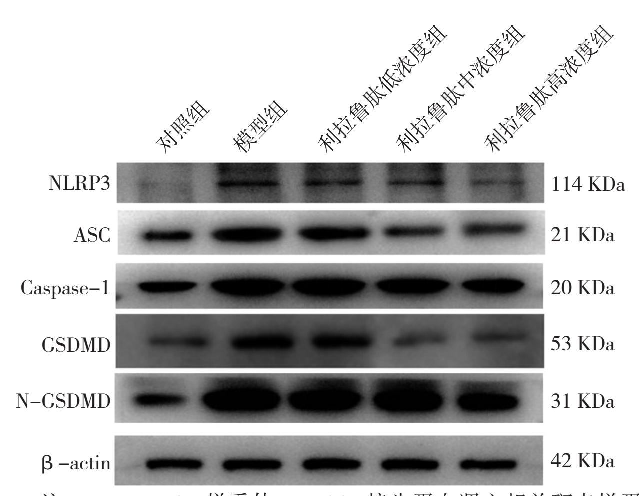
NLRP3 炎症小体由受体蛋白 NLRP3、ASC 和效应蛋白半胱氨酸天冬酶原 -1（pro-Caspase-1）组成[9]。

表 4 各组细胞 NLRP3 炎性小体活化相关蛋白与焦亡相关蛋白条带灰度值（$\bar{x}\pm s$，n=3）

Table 4 The gray values of NLRP3 inflammasome activation related protein and pyrodeath related protein band in each group

分组	NLRP3	ASC	Caspase-1	GSDMD	N-GSDMD
对照组	0.59±0.08	0.64±0.04	0.73±0.19	0.82±0.07	0.81±0.15
模型组	0.93±0.06[a]	1.22±0.23[a]	1.40±0.22[a]	1.35±0.20[a]	1.24±0.21[a]
利拉鲁肽低浓度组	0.80±0.06	1.03±0.09[a]	1.27±0.13[a]	1.14±0.13	1.12±0.12
利拉鲁肽中浓度组	0.74±0.11[b]	0.71±0.03[b]	1.04±0.16	1.06±0.13	1.02±0.13
利拉鲁肽高浓度组	0.70±0.10[b]	0.65±0.04[b]	0.91±0.08[b]	1.06±0.19	0.94±0.13
F 值	6.934	16.190	8.207	4.924	3.589
P 值	0.006	0.001	0.003	0.019	0.046

注：NLRP3=NOD 样受体 3，ASC= 接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白，Caspase-1= 天冬氨酸蛋白水解酶 1，GSDMD= 焦亡执行蛋白，N-GSDMD= 抗 N 端结构域的焦亡执行蛋白；[a] 表示与对照组比较 $P<0.05$，[b] 表示与模型组比较 $P<0.05$。



注：NLRP3=NOD 样受体 3，ASC= 接头蛋白凋亡相关斑点样蛋白，Caspase-1= 天冬氨酸蛋白水解酶 1，GSDMD= 焦亡执行蛋白，N-GSDMD= 抗 N 端结构域的焦亡执行蛋白，β-Actin= 肌动蛋白。

图 2 各组细胞 NLRP3 炎性小体活化相关蛋白与焦亡相关蛋白条带图

Figure 2 Bands of NLRP3 inflammasome activation related proteins and pyroptosis related proteins in each group of cells

NLRP3 炎症小体受各种信号刺激，当受体蛋白 NLRP3 被激活后表达上水平显著提升，招募 ASC 并互相作用，从而将原本无活性的 pro-Caspase-1 活化为 Caspase-1，以此发挥效应蛋白的功效[10]，活化后的 Caspase-1 对 pro-IL-1 等底物进行切割，最后促进炎症介质 IL-1β、IL-18 的成熟和分泌[11]。在 AS 发生、发展的全过程中，作为先天免疫反应中重要介质 IL-1β 和 IL-18 是炎症反应的总阀门，不仅自身参与炎症反应，其还作为上游因子导致下游其他炎症因子的级联样释放[12]。CCK-8 实验模型组细胞增值率降低，模型组 LDH 活力增加，说明造模成功；利拉鲁肽可拮抗 ox-LDL 造成的内皮细胞增值率降低及细胞膜结构的破坏，说明利拉鲁肽可以抑制 ox-LDL 诱导的内皮细胞损伤。本实验结果显示，与模型组相比，IL-1β、IL-18 含量在利拉鲁肽中浓度组、利拉鲁肽高浓度组中明显下降，说明一定浓度的利拉鲁肽可以抑制炎症反应。

炎性小体可以促进 Caspase-1 活化，进一步引起细胞程序性死亡，也就是细胞焦亡[13]，其特征包括细胞膜破裂和细胞内炎性内容物释出[14]。在经典焦亡途径中不同的 NLRs 对相应的刺激信号产生选择性应答，随后 pro-Caspase-1 通过 ASC 与 NLR 受体蛋白连接形成高分子复合物，自身剪切成有酶学活性的 Caspase-1，切割 GSDMD，释放 N-GSDMD 与细胞膜脂类相结合，多聚化并在细胞膜形成孔洞，导致细胞肿胀而焦亡[15-17]。由于细胞膜孔的形成，IL-1β 和 IL-18 等促炎症因子释放至细胞外，放大炎症反应[18-19]。研究发现，在 AS 破裂的斑块中检测到大量的 Caspase-1，进一步证明 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡参与 AS 的发展[20]。与对照组相比，炎症小体相关蛋白 NLRP3、ASC、Caspase-1、焦亡相关蛋白 GSDMD 和 N-GSDMD 在模型组中表达量升高，说明炎症反应及细胞焦亡参与 AS，进一步说明造模成功。与模型组相比，NLRP3、ASC 和 Caspase-1 在利拉鲁肽高浓度组中表达量降低，ASC 在利拉鲁肽中浓度组中表达量降低，说明高剂量的利拉鲁肽可以抑制炎症小体的表达。

随着对 AS 的研究日益深入，科研工作者开始探索其发病机制。过量的脂质沉积导致了 AS 斑块的形成，而炎症反应会使促炎细胞因子释放，介导细胞焦亡，从而加速 AS 的发展[21]。本研究表明利拉鲁肽显著抑制 ox-LDL 诱导的内皮细胞 NLRP3 炎性小体活化，减少内皮细胞的焦亡，从而发挥抗动脉硬化作用，有望为临床 AS 的治疗研究提供新的思路和新靶点。由于经费的限制，本实验未设计动物实验，以及 NLRP3 炎症小体的具体激活机制，这也是本研究未来研究发展方向。

作者贡献：陈玲提出主要研究目标，负责研究的构思与设计，研究的实施，撰写论文；徐锐实验操作，数据的收集与整理，张占英统计学处理，图、表的绘制与展示；程新春进行论文的修订；徐红负责文章的质量控制与审查，对文章整体负责，监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] 马明仁，陈俏梅，蔡晓庆，等. NLRP3 炎症小体抑制剂在心血管疾病应用中的研究进展［J］. 心脏杂志，2023，35（1）：88-93，98.

[2] BRUEN R，CURLEY S，KAJANI S，et al. Liraglutide dictates macrophage phenotype in apolipoprotein E null mice during early



atherosclerosis［J］. Cardiovasc Diabetol，2017，16（1）：143. DOI：10.1186/s12933-017-0626-3.

［3］MANGAN M S J，OLHAVA E J，ROUSH W R，et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in inflammatory diseases［J］. Nat Rev Drug Discov，2018，17（8）：588-606. DOI：10.1038/nrd.2018.97.

［4］WANG Y G，YANG T L. Liraglutide reduces oxidized LDL-induced oxidative stress and fatty degeneration in Raw 264.7 cells involving the AMPK/SREBP1 pathway［J］. J Geriatr Cardiol，2015，12（4）：410-416. DOI：10.11909/j.issn.1671-5411.2015.04.013.

［5］高奋，薛拴勤，朱洁，等. 沉默 lncRNA ANRIL 对 Ox-LDL 诱导人脐静脉内皮细胞凋亡相关蛋白的影响［J］. 中国病理生理杂志，2023，39（3）：528-533. DOI：10.3969/j.issn.1000-4718.2023.03.019.

［6］高海娜. 利拉鲁肽对高脂诱导血管内皮细胞氧化损伤的作用及机制研究［D］. 石家庄：河北医科大学，2016.

［7］WOLF D，LEY K. Immunity and inflammation in atherosclerosis［J］. Circ Res，2019，124（2）：315-327. DOI：10.1161/CIRCRESAHA.118.313591.

［8］ARONOVA A，TOSATO F，NASER N，et al. Innate immune pathways in atherosclerosis-from signaling to long-term epigenetic reprogramming［J］. Cells，2023，12（19）：2359. DOI：10.3390/cells12192359.

［9］杨才弟，汪正於，曾鼎华，等. NLRP3 炎症小体参与脑缺血再灌注损伤的研究进展［J］. 中国免疫学杂志，2022，38（13）：1657-1660. DOI：10.3969/j.issn.1000-484X.2022.13.022.

［10］JING W D，PILATO J L，KAY C，et al. Activation mechanisms of inflammasomes by bacterial toxins［J］. Cell Microbiol，2021，23（4）：e13309. DOI：10.1111/cmi.13309.

［11］刘铂，王瑞莹，周嘉惠，等. NLRP3 炎症小体在心血管疾病中的研究进展［J］. 中南药学，2022，20（6）：1391-1396. DOI：10.7539/j.issn.1672-2981.2022.06.028.

［12］王梅芳，杨国康，郭凯文. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 在冠状动脉粥样硬化性心脏病发病中作用的研究进展［J］. 内科急危重症杂志，2021，27（1）：65-67，88. DOI：10.11768/nkjwzzzz20210118.

［13］HUGHES M M，O'NEILL L A J. Metabolic regulation of NLRP3［J］. Immunol Rev，2018，281（1）：88-98. DOI：10.1111/imr.12608.

［14］LISTON A，MASTERS S L. Homeostasis-altering molecular processes as mechanisms of inflammasome activation［J］. Nat Rev Immunol，2017，17（3）：208-214. DOI：10.1038/nri.2016.151.

［15］FENG S Y，FOX D，MAN S M. Mechanisms of gasdermin family members in inflammasome signaling and cell death［J］. J Mol Biol，2018，430（18 Pt B）：3068-3080. DOI：10.1016/j.jmb.2018.07.002.

［16］周康. 一、非经典炎症小体 caspase-11-CARD 的结构研究；二、介导细胞焦亡的关键分子 GSDMD 的结构研究［D］. 安徽：中国科学技术大学，2018.

［17］闻子墨. 活血化瘀清热解毒法调控 NLRP3 炎症小体介导的细胞焦亡抗 AS 的作用研究［D］. 沈阳：辽宁中医药大学，2021.

［18］RAUF A，SHAH M，YELLON D M，et al. Role of caspase 1 in ischemia/reperfusion injury of the myocardium［J］. J Cardiovasc Pharmacol，2019，74（3）：194-200. DOI：10.1097/FJC.0000000000000694.

［19］解静，程琦，刘昳佳，等. NLRP3 炎症小体在动脉粥样硬化中的作用研究进展［J］. 天津中医药，2020，37（4）：469-474. DOI：10.11656/j.issn.1672-1519.2020.04.24.

［20］赵战芝，姜志胜. 我国动脉粥样硬化基础研究几个热点领域的新进展［J］. 中国动脉硬化杂志，2019，27（8）：645-654. DOI：10.3969/j.issn.1007-3949.2019.08.002.

［21］BROZ P. Immunology：Caspase target drives pyroptosis［J］. Nature，2015，526（7575）：642-643. DOI：10.1038/nature15632.

（收稿日期：2023-07-10；修回日期：2023-12-03）

（本文编辑：邹琳）